

Aus dem Institut für experimentelle Pathologie
der Farbenfabriken Bayer A.G.
Wuppertal-Elberfeld
Leiter: Professor Dr. E. Grundmann

**Die Entstehung des
Schilddrüsenkarzinoms bei der
Ratte unter Thiouracil und
2-Acetaminofluoren**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg im Breisgau

vorgelegt von
HANS JOACHIM SEIDEL
aus
Berlin
1965

Dekan: Prof. Dr. H. Holzer
Referent: Prof. Dr. E. Grundmann

Die Entstehung des Schilddrüsenkarzinoms bei der Ratte unter Thiouracil und 2-Acetaminofluoren*

Von

E. Grundmann und H. J. Seidel

Aus dem Institut für experimentelle Pathologie der Farbenfabriken Bayer AG.,
Wuppertal-Elberfeld

Leiter: Prof. Dr. E. GRUNDMANN

Mit 21 Abbildungen im Text

(Eingegangen am 20. Januar 1965)

* Wesentliche Teile der vorliegenden Arbeit wurden von H. J. SEIDEL als Dissertation der Medizinischen Fakultät der Universität Freiburg i. Br. vorgelegt.



Zu den ersten organspezifischen Carcinogenesen, die bekannt wurden, gehört die Entdeckung von BIELSCHOWSKI (1944b), daß kombinierte Gaben von Thioharnstoff und 2-Acetaminofluoren (AAF) bei der Ratte Schilddrüsenkarzinome erzeugen. Thioharnstoffderivate, wie Allylthioharnstoff, Methyl- oder Propylthiouracil u. a., führen wohl zu Schilddrüsenadenomen (Lit. z. B. bei LAQUEUR 1949; ISRAEL 1960; STOLL u. MARAUD 1963 u. a.), vereinzelt sogar zu Carcinomen (PURVES 1947). Gibt man vorher oder zugleich AAF, dann treten die Adenome jedoch häufiger und rascher auf und gehen durchweg in Carcinome über (BIELSCHOWSKI 1949, 1955, 1960; DALTON 1946/1947; PASCHKIS u. Mitarb. 1948; RERABEK u. RERABEK 1947 u. a.). Diese experimentellen Befunde sind in

späterer Zeit in zahlreichen Untersuchungen mit vielen Abwandlungen der Versuchsbedingungen immer wieder bestätigt worden, zuletzt von LEATHEM (1958) und NAPALKOV (1959), im deutschen Schrifttum von KRACHT (1954). Der Letztgenannte unterschied in Anlehnung an BÜNGELER (1951/1952) zwischen „autonomen“ und „konditionierten“ Geschwülsten und rechnete die so entstandenen Schilddrüsentumoren entsprechend ihrer hormonellen Abhängigkeit zu den letzteren. Unter dem Eindruck der Vorstellungen von BERENBLUM (1941, 1947) nahm HALL (1948, 1949) an, AAF wirke bei der Tumorentstehung als „initiating agent“, das durch die Thioharnstoffapplikation vermehrt ausgeschüttete thyreotrope Hormon (TSH) der Hypophyse als „promoting agent“.

Das Thiouracil, dessen Wirkung auf die Schilddrüse von MACKENZIE (1943) und ASTWOOD (1943) entdeckt wurde, hat wahrscheinlich einen fermentativen Angriffspunkt. Es hemmt einmal die Peroxydase, die für die Oxydation des Jodids zu elementarem Jod verantwortlich ist. Allein dieses elementare Jod kann in die Aminosäure Tyrosin, die Vorstufe von Trijodtyronin und Thyroxin, eingebaut werden. Weiter hemmt das Thiouracil diesen Jodeinbau in das Tyrosin und die Synthese von zwei Molekülen Dijodtyronin zu Thyroxin (Zusammenfassung bei PITT-RIVERS 1950). Damit kann wirksames Schilddrüsenhormon nicht mehr in ausreichender Menge gebildet werden. Seine Konzentration im strömenden Blut nimmt ab, und es folgt reaktiv eine vermehrte Ausschüttung des thyreotropen Hormons aus den eosinophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens und damit eine Hormonausschüttung bzw. Kolloidabnahme der Schilddrüse. Dadurch wird ein Wachstumsreiz auf das Schilddrüsenparenchym ausgeübt. Das eigentlich wirksame Agens bei der Thioharnstoffapplikation ist also das TSH.

Die andere Substanz, die verwandt wurde, ist das AAF, dessen carcinogene Eigenschaft von WILSON, DEEDS u. COX (1941, 1947) bei einer Prüfung der als Insektizid gebrauchten Verbindung entdeckt wurde. Es ist gut löslich und verteilt sich rasch und gleichmäßig im Organismus (MORRIS u. WESTFALL 1948). Bei Ratten und Hühnern erzeugt es bösartige Tumoren der Leber, der Mamma, der Nieren, der Harnblase, des Pankreas, der Lungen und auch des Gehörganges (BIELSCHOWSKI 1944a, 1946/1947; CAMPBELL 1955; JABARA 1963). Eine ausgesprochene Organotropie liegt also nicht vor. COX u. a. (1947) haben auch von Schilddrüsentumoren der Ratte berichtet. – Über den Wirkungsmechanismus des AAF ist noch sehr wenig bekannt, ja es ist sogar noch offen, ob es unmittelbar cancerogen ist oder erst über ein Stoffwechselprodukt (SCHMÄHL 1962). Während bisher seine Bindung an Protein für charakteristisch angesehen

wurde (ARRHENIUS 1961), wird jetzt eine Beziehung zu den Nukleinsäuren diskutiert (DANNENBERG 1963). MARROQUIN (1962) hat zum Beispiel eine spezifische Bindung an eine RNS der Rattenleber nachgewiesen. Damit gewann aber dieses Carcinogenesemodell ein besonderes Interesse. Wäre doch hier besonders klar zu zeigen, ob die vom Thioharnstoffderivat über die TSH-Ausschüttung bedingte Proliferationssteigerung, die ja wie jede Wachstumsanregung mit einer verstärkten DNS- und RNS-Synthese gekoppelt ist, durch die carcinogene Substanz AAF noch verstärkt wird, oder ob sie in irgendeiner Weise abgewandelt erscheint. Nachdem bereits quantitative cytologische und cytochemische Daten über die Reaktionen der Schilddrüsenepithelzelle auf Thiouracil mit karyometrischer (LUDWIG 1950; KOCH 1958; WILFINGSEDER u. a. 1961) und cytophotometrischer (ALFERT u. a. 1955; ROELS 1954a, b) Methodik vorliegen, und nachdem mit diesen beiden Methoden die Carcinogenese an anderen Organen untersucht worden war (GRUNDMANN 1954; GRUNDMANN, HILLEMANNS u. RHA 1960, 1961; HOBIG u. GRUNDMANN 1962), lag es nahe, auf gleiche Weise auch die Carcinogenese in der Rattenschilddrüse anzugehen.

Dabei waren vor allem zwei Alternativen für die Carcinogenese an diesem Modellexperiment gegenüberzustellen: 1. Das Carcinom ist eine Folge übersteigerter Proliferationsanregung, das heißt Thioharnstoffderivat und AAF addieren oder potenzieren sich, und das entstehende Carcinom ist eine hyperplasiogene Geschwulst (BÜNGELER 1951/1952). 2. Das Carcinom entsteht nach BERENBLUM (1941, 1947) durch das „initiating agent“ AAF und wird erst durch das „promoting agent“, also durch das Thioharnstoffderivat, zum Wachstum gebracht.

Methodik

Die Versuche wurden an 90 bis 120 g schweren Albinoratten eigener Zucht durchgeführt. Die Tiere erhielten Altromin-Trockenfutter. Sie wurden in zwei Gruppen eingeteilt:

Gruppe A erhielt Methylthiouracil (MTU), ad libitum gegeben, 0,1%ig im Trinkwasser gelöst, bei den Versuchen mit mehr als 30 Tagen Dauer Propylthiouracil (PTU) 0,02%ig. Da beide Substanzen genau die gleiche Wirkung haben (PITT-RIVERS 1950), wird im Text nur von „Thiouracil“ gesprochen. Zur Untersuchung kamen 30 Tiere nach 1, 2, 4, 5, 10, 30, 70, 139, 200 und 230 Tagen Fütterung.

Gruppe B erhielt ebenfalls MTU 0,1%ig bzw. bei den mehr als 30 Tage dauernden Versuchen PTU 0,02%ig und zusätzlich AAF 0,1%ig ins Futter gemischt. Zur Untersuchung kamen hier 40 Tiere nach 1, 5, 30, 70, 139, 193 und 200 Tagen. Weitere lebten 260, 269, 342 und 343 Tage nach Fütterungsbeginn und erhielten zunächst 223 Tage 0,06%ig PTU, dann weiter 0,25%ig und AAF 0,1%ig während der ganzen Versuchsdauer mit einer Pause vom 152. bis 188. Tag. Dazu kamen 10 Kontrolltiere.

Die Tiere wurden in Äther kurz betäubt, die Organe sofort entnommen und in 6%igem gepuffertem Formol (pH 7,0) fixiert, nach 24 Stunden 2 Stunden lang gewässert und über die aufsteigende Alkoholreihe in Paraffin eingebettet. Die Blöcke wurden bis zum Versuchsende aufbewahrt und dann unmittelbar nacheinander geschnitten.

Kernvolumenmessungen

Die Kerngrößen wurden an H.-E.-gefärbten, 15μ dicken Schnitten bei 1250-facher Vergrößerung gemessen, die Kerne als Rotationsellipsoide nach der Formel $V = \frac{4}{3} \pi ab^2$ berechnet. Dabei haben wir mit dem Okularmikrometer den größten und den kleinsten Kerndurchmesser bestimmt und darauf geachtet, daß der größte Kernumfang, kenntlich an der Schärfe der Membran, in einer mittleren Ebene lag und nach Drehen an der Mikrometerschraube nach beiden Richtungen an Schärfe verlor. So ließen sich Kernanschnitte weitgehend ausschließen. Es wurden 200 Kerne pro Präparat gemessen. Die variationsstatistische Auswertung erfolgte nach den Angaben von HINTZSCHE (1945) mit Klassen in logarithmischer Gliederung der Volumina. Nach vier Zwischenklassen ist hierbei der doppelte Volumenwert erreicht.

DNS-Messungen

20μ dicke Schnitte wurden nach standardisierter Feulgen-Methode gefärbt, nachdem alle zu vergleichenden Präparate auf einem Objektträger aufgezogen worden waren. Die Messungen erfolgten cytophotometrisch mit der Zwei-Wellenlängen-Methode. In Vorversuchen wurden die Wellenlängen ermittelt, bei denen die Extinktionen in konstantem Verhältnis 1:2 standen (Abb. 1). Sie lagen bei 165 und 190 ME

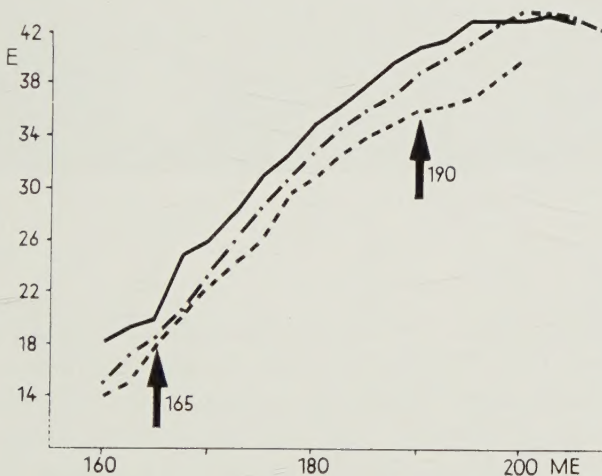


Abb. 1. Verlauf der Extinktionskurven von 3 Zellkernen in verschiedenen Wellenlängenbereichen (Ordinate: Extinktionswert, Abszisse: Wellenlänge in Meßeinheiten (ME)). Bei den Wellenlängen 165 und 190 ME (Pfeile) verhalten sich die Extinktionswerte wie 1:2.

Für diese Extinktionsrelation 1:2 gibt es Tabellen, die den Rechengang erheblich vereinfachen (s. dazu GRUNDMANN, HOBIG u. SCHÜHL 1963). Gemessen wurden 100 Kerne pro Präparat, wobei mit der Mikrometerschraube geprüft wurde, ob der jeweilige Kern ganz im Schnitt lag und von keinem Nachbarkern über- oder unterlagert war. Die gewonnenen relativen DNS-Werte wurden entsprechend dem Vorgehen bei den Kernvolumina variationsstatistisch ausgewertet.

Befunde

1. Makroskopische und histologische Veränderungen

Gruppe A (Thiouracil allein)

Makroskopisch fällt schon nach 2 bis 3 Tagen Versuchsdauer eine Rötung der Schilddrüse als Zeichen einer vermehrten Durchblutung auf. Die Größe des Organs nimmt kontinuierlich bis etwa zum 15. Tag zu (Abb. 2). Danach läßt sich zunächst keine weitere Zunahme beobachten, bis nach etwa 200 Tagen die ersten Adenomknoten auftreten und zu einer Auftreibung des betreffenden Organabschnittes führen.

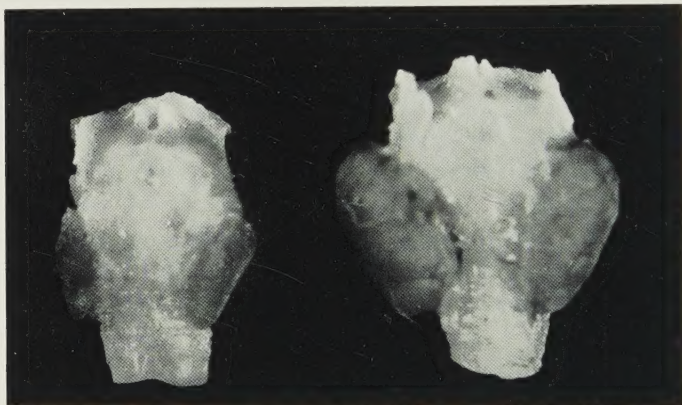


Abb. 2. Vergrößerung der Rattenschilddrüse unter Thiouracil. Links: normale Schilddrüse; rechts: Schilddrüse nach 15 Tagen Einwirkung von Methylthiouracil. (Vergr. etwa 10fach.)

Histologisch haben im normalen Schilddrüsengewebe die Follikel unterschiedliche Größe. Im Zentrum überwiegen die kleineren Follikel, in den Randpartien die größeren mit abgeplattetem Epithel (Abb. 3). Alle Follikel enthalten Kolloid von blaß eosinophiler Anfärbbarkeit.

Nach 2 Tagen Fütterung ist das Bild bereits verändert: Die Follikellumina sind kleiner geworden, woraus der Eindruck einer größeren Zelldichte entsteht (Abb. 4). Außerdem sind die meisten Follikel jetzt rund und nahezu kolloidfrei. Die Höhe jeder einzelnen Epithelzelle hat zuge-

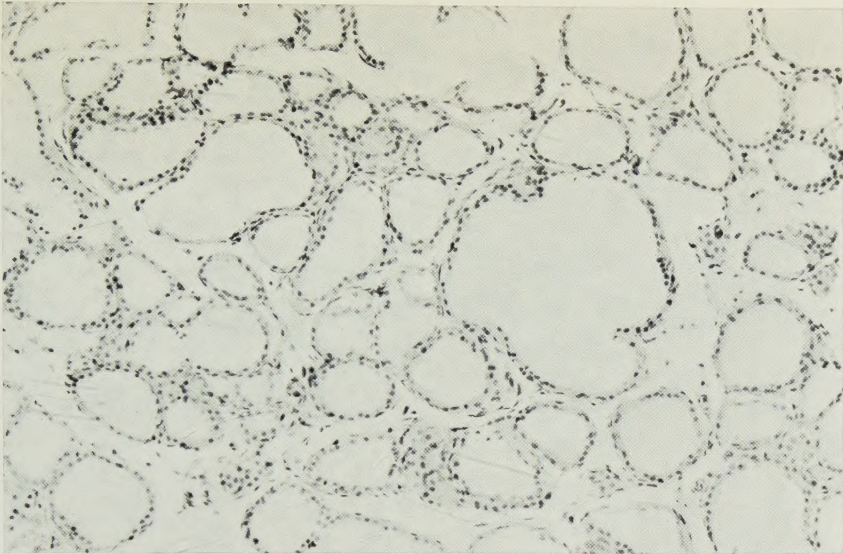


Abb. 3. Normales Schilddrüsen Gewebe der Ratte mit glatten, unterschiedlich großen Follikeln. (Färbung H.-E., Vergr. 120fach.)

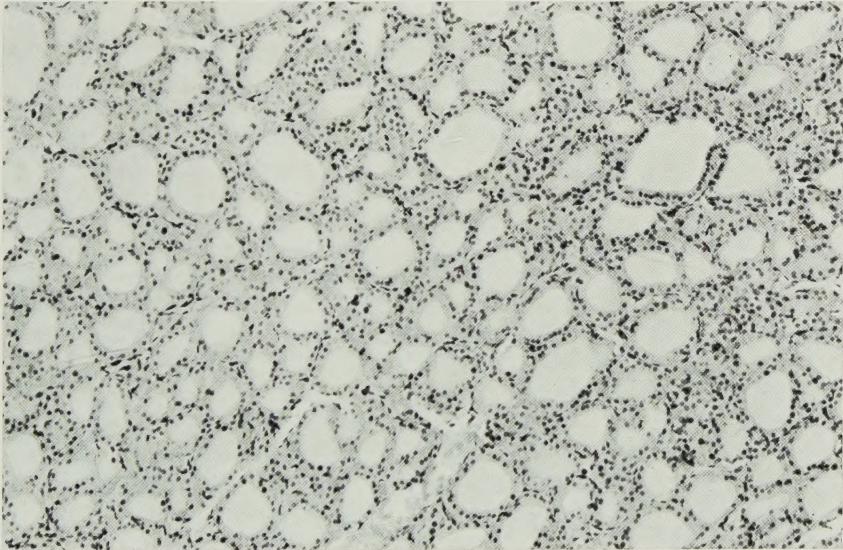


Abb. 4. Rattenschilddrüse nach 2 Tagen Fütterung mit Methylthiouracil. Verkleinerung der Follikellumina. Zellanteil pro Flächeneinheit vermehrt. (Färbung H.-E., Vergr. 120fach.)

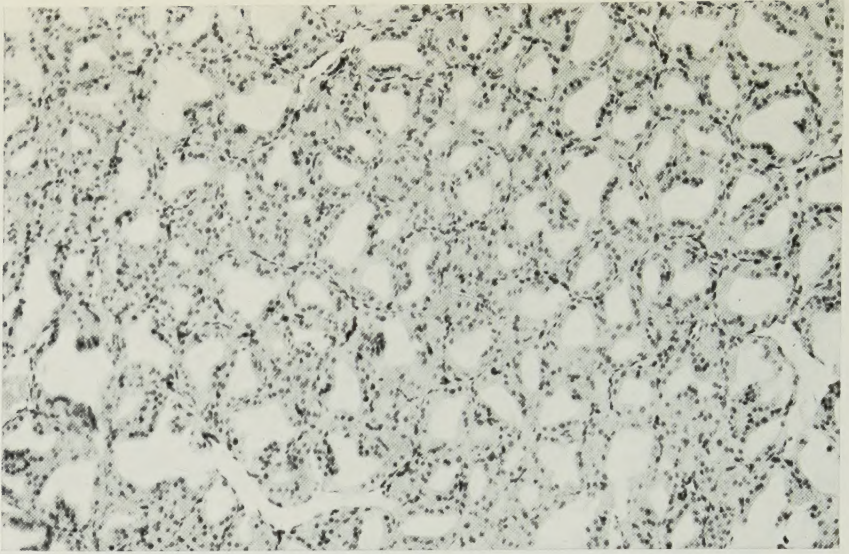


Abb. 5. Stimuliertes Schilddrüsengewebe nach 4 Tagen Einwirkung von Methylthiouracil. Bildung von sogenannten Proliferationsknospen. Beginnende Einfaltung der Follikel. (Färbung H.-E., Vergr. 120fach.)

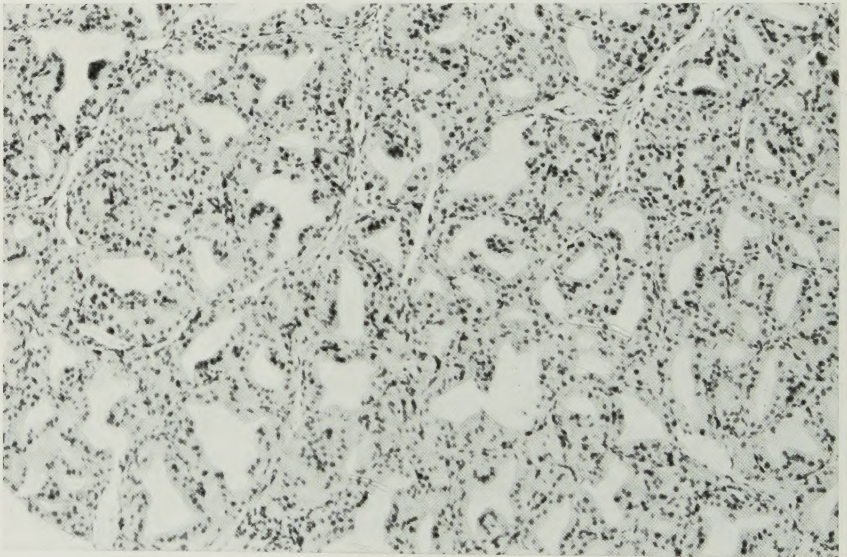


Abb. 6. Stimulierte Rattenschilddrüse nach 10 Tagen Einwirkung von Methylthiouracil. Ausbildung zahlreicher sogenannter Proliferationsknospen. Deutliche Einfaltung der Follikel. (Färbung H.-E., Vergr. 120fach.)

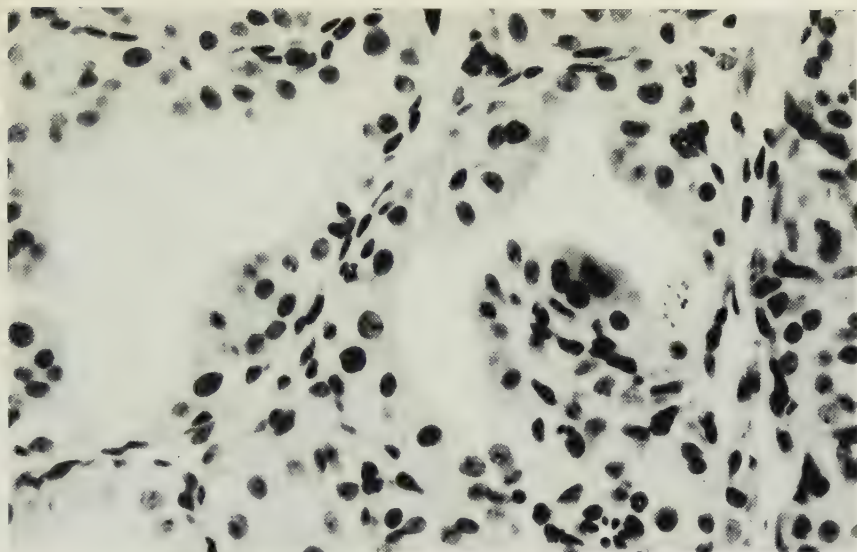


Abb. 7. Stimulierte Rattenschilddrüse nach 10 Tagen Einwirkung von Methylthiouracil. Ausbildung zahlreicher Proliferationsknospen, die in die Lichtung der Follikel hineinragen. Rechts, in einer Follikelbucht eine gestörte Mitose. (Färbung H.-E., Vergr. 480fach.)

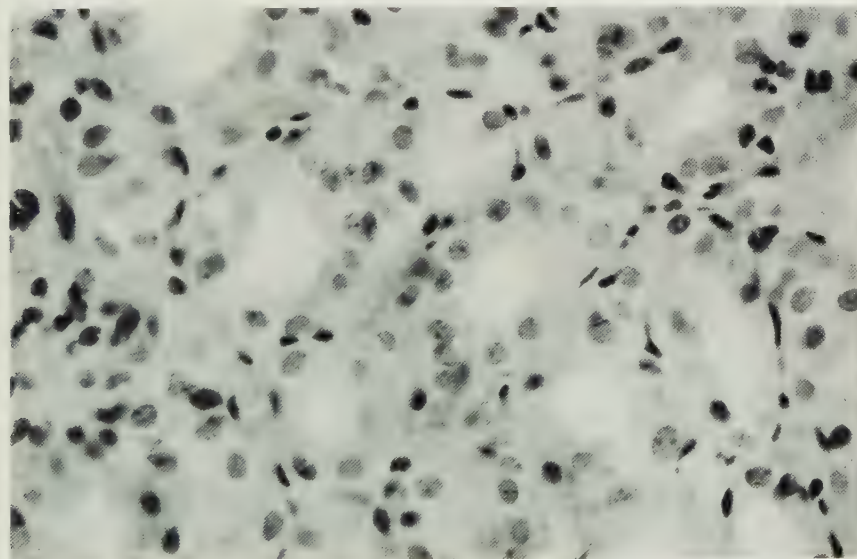


Abb. 8. Stimulierte Rattenschilddrüse nach 70 Tagen Einwirkung von Propylthiouracil. In diesem Ausschnitt kleine Follikel von Drüsenstruktur ohne Einfaltungen oder sogenannte Proliferationsknospen. (Färbung H.-E., Vergr. 480fach.)

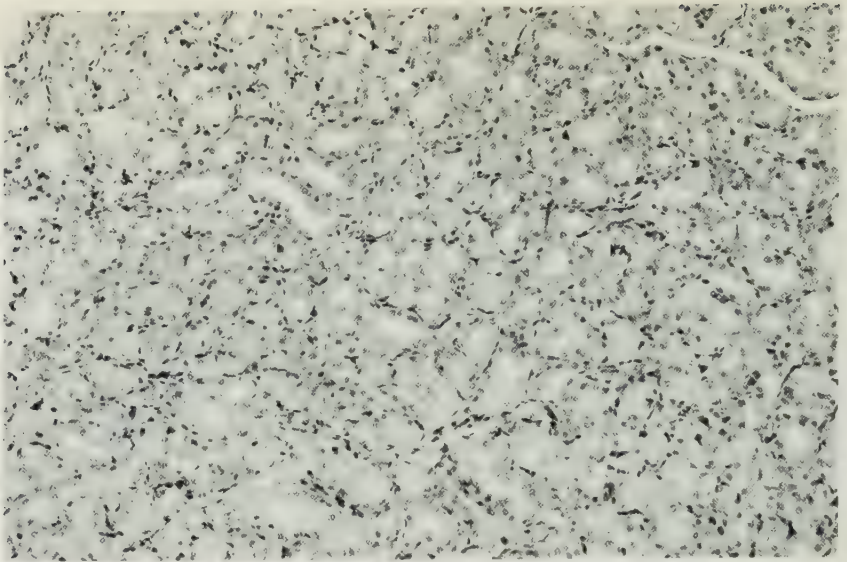


Abb. 9. Stimulierte Rattenschilddrüse nach 139 Tagen Einwirkung von Propylthiouracil. Kleine Follikel von tubulärer Struktur ohne Einfaltungen und ohne Proliferationsknospen. (Färbung H.-E., Vergr. 120fach.)

nommen. Das Cytoplasma ist kleinblasig aufgelockert, wodurch der ganze Zelleib aufgetrieben erscheint, und auch die Kerne sind deutlich größer.

Nach 4 Tagen ist das Bild erneut verändert: Jetzt haben die Follikel ihre gleichmäßige, runde Form verloren. Ihre Wand erscheint an manchen Stellen durch sogenannte Proliferationsknospen eingefaltet (Abb. 5). Dort sind die Zellkerne etwas kleiner, und das Cytoplasma ist etwas dunkler als bei den angrenzenden Zellen. In diesen hat die Zelhöhe weiter zugenommen. Die Kerne haben auffallend unterschiedliche Größe, und erstmals treten nun Mitosen auf.

Nach 10 Tagen ist das Bild ganz von den zahlreichen Einstülpungen und Proliferationsknospen bestimmt, die den Follikeln eine sehr unregelmäßige Form geben (Abb. 6). Die Zelldichte hat weiter zugenommen. Die Proliferationsknospen scheinen aufeinander zuzuwachsen und so das ursprüngliche Follikellumen zu unterteilen. Sie enthalten oft ein zartes Bindegewebsgerüst, manchmal auch eine Kapillare. Die Kerngröße ist in den Follikelepithelien noch unterschiedlicher geworden. Die Zahl der Mitosen hat zugenommen (Abb. 7). Im weiteren Verlauf bleibt dieses Bild weitgehend erhalten, Mitosen werden allerdings nicht mehr sicher beobachtet. Nach 70 Fütterungstagen sind die Follikel deutlich verkleinert

und die Proliferationsknospen wesentlich seltener. Kolloid ist auch jetzt nicht vorhanden (Abb.8).

Nach 139 Tagen haben die meisten Follikel nur noch ein sehr kleines, rundes Lumen (Abb. 9). Proliferationsknospen und Mitosen sind nicht mehr zu sehen. Dieses Bild bleibt während der restlichen Versuchsdauer bestehen; selbst dann, wenn nach 230 Tagen einzelne Adenome auftreten.

Gruppe B (Thiouracil und AAF)

Makroskopisch sind auch hier eine Rötung und eine erhebliche Vergrößerung der Schilddrüse festzustellen, etwa analog der Gruppe A. Dies bleibt dann stationär, bis nach 200 Tagen lokale Auftreibungen auf Adenome schließen lassen. Nach mehr als 300 Tagen Fütterung sind als weißgraue Bezirke Carcinomknoten zu erkennen; sie durchsetzen beide Schilddrüsenlappen (Abb. 10), so daß die Schilddrüse bis Haselnußgröße erreicht. Metastasen bis zu Erbsengröße treten vor allem in den Lungen auf (Abb. 11).

Histologisch entstehen während der ersten Versuchstage die gleichen Veränderungen wie bei Gruppe A, also eine Abrundung der Follikel, ein Kolloidschwund, eine Zunahme der Zellhöhe mit blasiger Auftreibung des Zelleibes und eine Kernvergrößerung. Auch Proliferationsknospen



Abb. 10. Schilddrüsenkarzinom der Ratte unter Einwirkung von Propylthiouracil (343 Tage) und 2-Acetaminofluoren. Links: Vorderansicht; rechts: Rückansicht. (Vergr. etwa 10fach.)

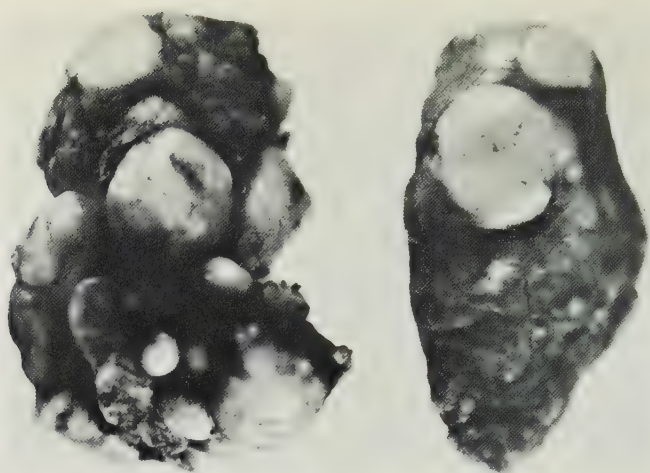


Abb. 11. Lungenmetastasen des Schilddrüsenkarzinoms der Abb. 10. Links: linke Lunge; rechts: rechte Lunge. (Vergr. etwa 10fach.)

und Mitosen werden beobachtet. Der Ablauf der Veränderungen ist jedoch insgesamt erheblich verlangsamt, und die Veränderungen sind weniger intensiv. So gleicht zum Beispiel das Bild nach 70 Tagen Thiouracil und AAF (Abb. 12) eher dem Bild nach 10 Tagen Thiouracil (Abb. 6) als dem nach 70 Tagen (Abb. 8): Die Drüsenstruktur ist unregelmäßig, und die Proliferationsknospen sind sehr zahlreich. Nach 139 Tagen ist ein neues Bild entstanden: Die Variabilität der Follikelgröße hat zugenommen; manche Follikel sind sehr klein und fast atrophisch, andere sind groß und ausgeweitet. Man findet nur noch vereinzelt Einfaltungen und nur ange-deutete Proliferationsknospen (Abb. 13). Zellhöhe und Zellgröße sind im Gegensatz zu Gruppe A annähernd normal.

Nach 193 Tagen Versuchsdauer haben wir die ersten Adenome beobachtet, weitere nach 260, 269 und 343 Tagen. Ihnen zeitlich vorge-schaltet sind kleine dunkelkernige Bezirke, in denen die Zellen besonders dicht stehen (Abb. 14). Dadurch ist die Unregelmäßigkeit des histolo-gischen Bildes (Abb. 13) noch verstärkt. Es handelt sich um kompakte Haufen von dunkelkernigen Epithelzellen mit schmalen Cytoplasma und entsprechend großer Kern-Plasma-Relation. Von den ebenfalls oft klein-kernigen Proliferationsknospen (vgl. Abb. 6) sind diese Zellgruppen sicher zu unterscheiden (Abb. 14).

Diese dunkelkernigen Zellen bauen auch die Adenome auf, das heißt, auch in diesen ist die Kern-Plasma-Relation stark zugunsten der Kerne

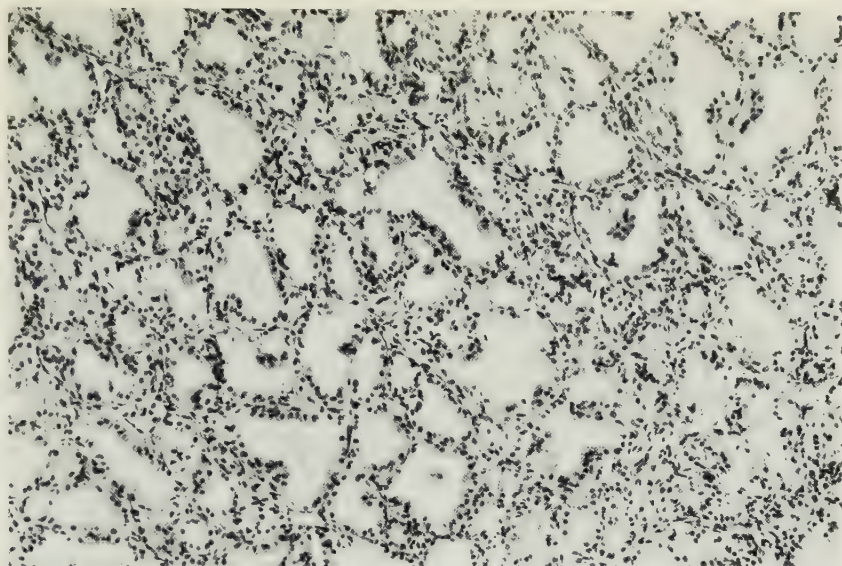


Abb. 12. Rattenschilddrüse nach 70 Tagen Einwirkung von Propylthiouracil und 2-Acetaminofluoren. Bild der stimulierten Rattenschilddrüse mit zahlreichen Einfaltungen und sogenannten Proliferationsknospen. (Färbung H.-E., Vergr. 120fach.)

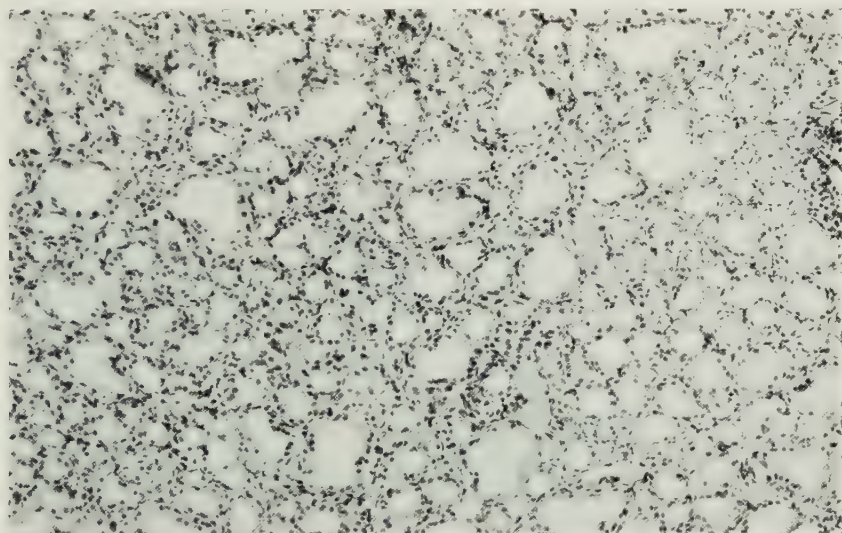


Abb. 13. Rattenschilddrüse nach 139 Tagen Einwirkung von Propylthiouracil und 2-Acetaminofluoren. Nur noch einzelne Einfaltungen und sogenannte Proliferationsknospen. Die meisten Follikel sind annähernd rund. Follikelgröße sehr unterschiedlich. (Färbung H.-E., Vergr. 120fach.)

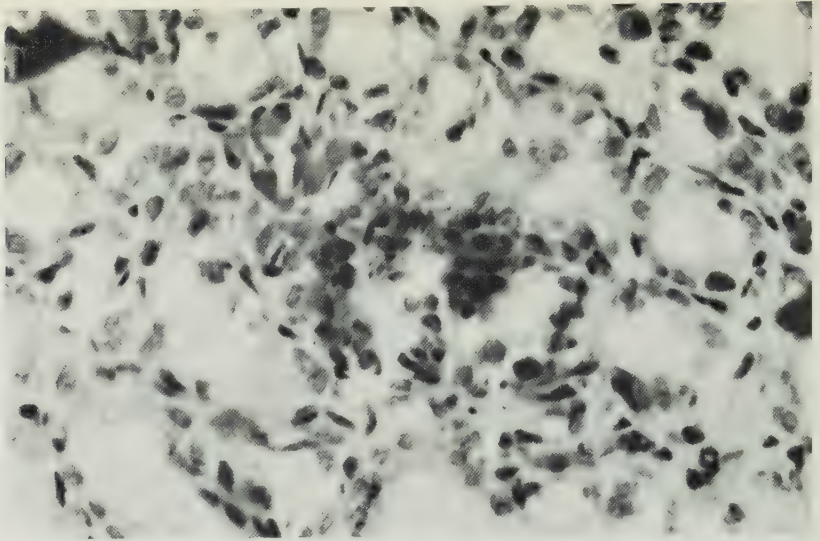


Abb. 14. Dunkelkerniger Proliferationsherd in einer Rattenschilddrüse nach 269 Tagen Propylthiouracil und 190 Tagen 2-Acetaminofluoren. (Färbung H.-E., Vergr. 480fach.)

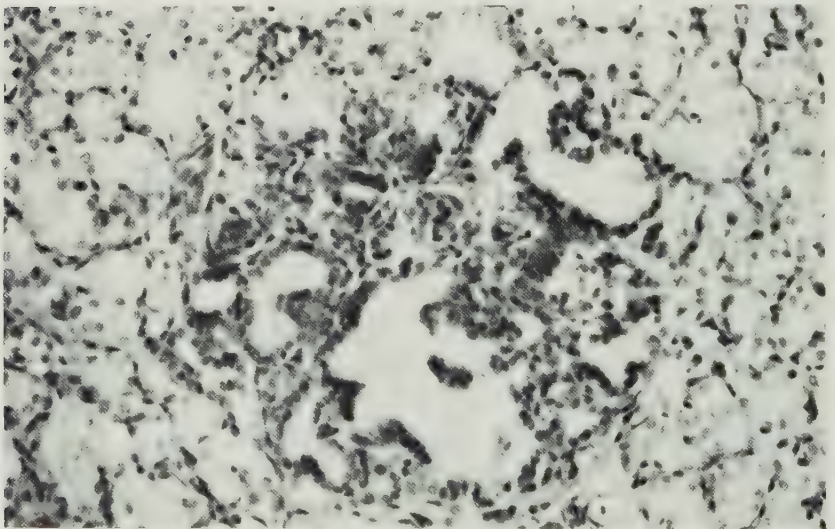


Abb. 15. Primäres Schilddrüsenadenom der Ratte nach 193 Tagen Propylthiouracil und 2-Acetaminofluoren. (Färbung H.-E., Vergr. 240fach.)

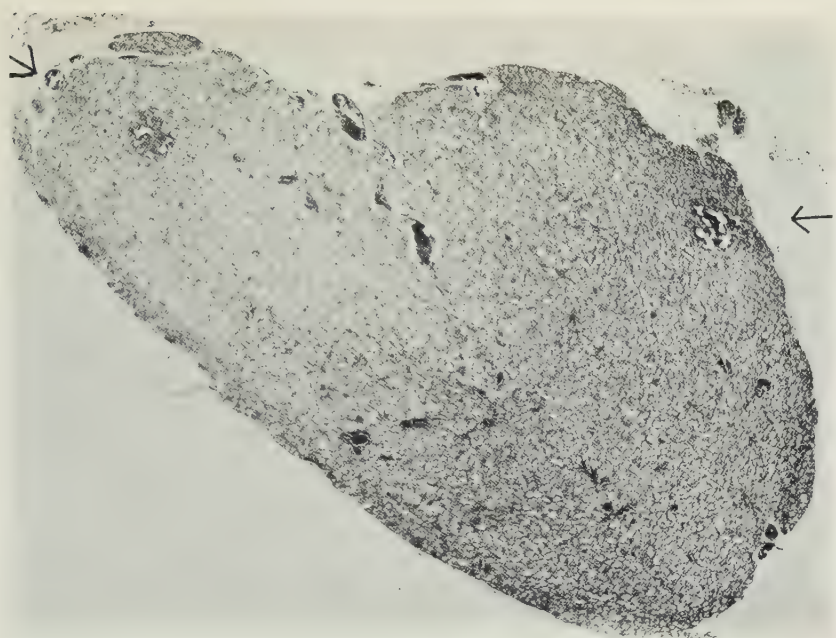


Abb. 16. Bildung von 2 primären Adenomen in der Rattenschilddrüse nach 193 Tagen Einwirkung von Propylthiouracil und 2-Acetaminofluoren. Die Adenome durch Pfeile gekennzeichnet. Gleichmäßige Aktivierung des dazwischenliegenden Parenchyms. (Färbung H.-E., Vergr. etwa 40fach.)

verschoben, und die Zellen liegen zum Teil sehr dicht beieinander. Sie bilden aber auch oftmals unterschiedlich große Follikellumina mit unregelmäßigen Proliferationsknospen und variablem Kolloidgehalt (Abb. 15).

Die Adenome entstehen meist multilokulär und sind deutlich gegen das übrige Gewebe abgegrenzt (Abb. 16). Mit weiterem Wachstum verdrängen sie das umgebende Schilddrüsenparenchym. Sie enthalten neben den kompakten kleinen Follikeln große, cystisch ausgeweitete Follikel, wiederum mit unregelmäßigen Proliferationsknospen. Immer sind sie dunkelkernig und sehr zellreich. Mitosen sind in dem sehr hyperchromatischen Gewebe nicht sicher nachzuweisen.

Nach über 300 Tagen Versuchsdauer treten Carcinome auf, und zwar ebenfalls multilokulär, oft aus mehreren Adenomen. Jetzt sind meist alle Follikel voller Kolloid. Einzelne sind stark aufgebläht und enthalten Teile von unregelmäßigen Proliferationsknospen sowie nekrotische Epithelzellen. Die Zellen des Follikelsaumes sind sehr unterschiedlich geformt

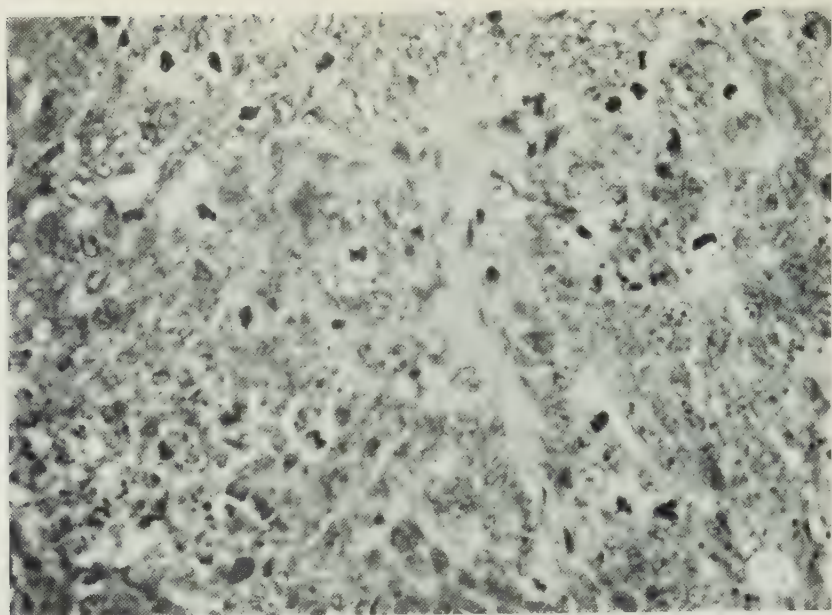


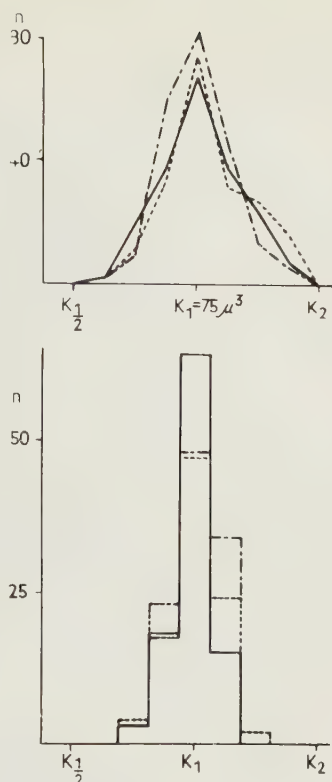
Abb. 17. Primäres Schilddrüsenkarcinom der Ratte nach 343 Tagen Einwirkung von Propylthiouracil und 190 Tagen 2-Acetaminofluoren. Sehr mitosereiches, anaplastisches Carcinom. (Färbung H.-E., Vergr. 480fach.)

und haben dunkle polymorphe Kerne mit zahlreichen Mitosen. Die Abgrenzung dieser Gewebekomplexe gegen das umgebende Schilddrüsen-
gewebe ist an vielen Stellen unscharf. Abbildung 17 zeigt einen Aus-
schnitt aus einem soliden Carcinomareal von anaplastischem Charakter.
Die Zellkerne sind sehr polymorph, viele von ihnen in Mitose. Das Gewebe
hat seinen organologischen Aufbau verloren. Die Metastasen zeigen histo-
logisch das gleiche Bild.

2. Messungen von Kernvolumen und DNS-Gehalt

Bei 3 Kontrolltieren wurden Kernvolumen- und DNS-Messungen durchgeführt, um die normale Streuung kennenzulernen. Abbildung 18 zeigt die so gewonnenen Kurven. Aus ihnen ist ersichtlich, daß bei der angewandten Fixationsmethode (Formol) das durchschnittliche Kern-
volumen bei $75 \mu^3$ liegt und bei allen 3 Tieren die gleiche Variabilität auf-
weist. Auch die Verteilung der DNS-Werte zeigt bei allen 3 Messungen keine ins Gewicht fallenden Unterschiede.

Abb. 18. Verlauf der Kernvolumen- (oben) und DNS-Kurven (unten) der Schilddrüsenzellkerne von 3 Kontrolltieren. Beide Kurven lassen die gute Übereinstimmung der Maxima und der übrigen Verteilung erkennen. Die Hauptklasse der Kernvolumina liegt bei einem durchschnittlichen Volumen von $75 \mu^3$. (Formolfixation.)



Gruppe A (nur Thiouracil)

Nach 1 Tag ist eine wesentliche Veränderung nicht eingetreten. Die Volumenkurve erscheint etwas abgeflacht, das Maximum liegt jedoch weiter bei K_1 , die DNS-Verteilung ist praktisch gleich geblieben (Abb. 19b).

Nach 5 Tagen beginnt eine deutliche Rechtsverschiebung der Volumenkurve, das heißt, zahlreiche Kerne werden größer, und es bildet sich zwischen K_1 und K_2 ein Plateau aus. Die DNS-Werte liegen zwar noch bei K_1 , viele Kerne haben jedoch die doppelte DNS-Menge, und fast ebensoviele liegen in den Zwischenklassen (Abb. 19c).

Nach 30 Tagen ist die Rechtsverschiebung der Volumenkurve noch deutlicher, das Maximum liegt zwischen K_1 und K_2 . Auch die DNS-Werte haben ihr Maximum zwischen K_1 und K_2 , und zwar eine Zwischenklasse oberhalb K_1 (Abb. 19d).

Nach 70 Tagen sind die Veränderungen von Kernvolumen- und DNS-Werten im wesentlichen unverändert. Die Streuung der Kernvolumina hat etwas abgenommen, wodurch die Kurve steiler erscheint (Abb. 19e).

Nach 139 Tagen tritt eine auffallende Dissoziation zwischen Kernvolumen- und DNS-Werten auf: das Maximum der Volumenkurve ist bei K_2 ausgebildet, das heißt, gegenüber den Kontrolltieren ist das Volumen genau verdoppelt; der DNS-Gehalt dieser Kerne liegt weiterhin eine Zwischenklasse oberhalb K_1 (Abb. 19f).

Nach 200 Tagen Behandlung hat sich die DNS-Verteilung weitgehend normalisiert; die Kerne sind aber immer noch wesentlich größer als in der Norm mit einem Gipfel unmittelbar unter K_2 (Abb. 19g).

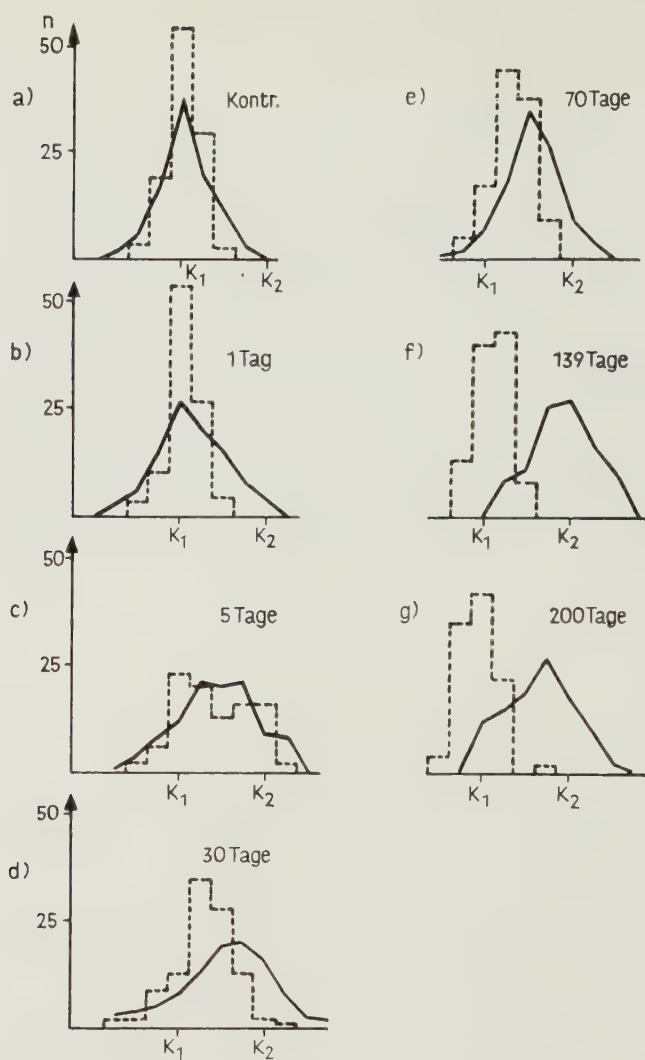


Abb. 19. Das Verhalten von Kernvolumen (ausgezogene Linie, $n = 200$) und DNS-Menge (gestrichelt, $n = 100$) im Verlauf der Stimulation der Schilddrüse der Ratte durch Thiouracil. a) Mittelwerte von 3 Kontrolltieren, b) nach 1 Tag MTU, c) nach 5 Tagen MTU, d) nach 30 Tagen MTU, e) nach 70 Tagen PTU, f) nach 139 Tagen PTU, g) nach 200 Tagen PTU.

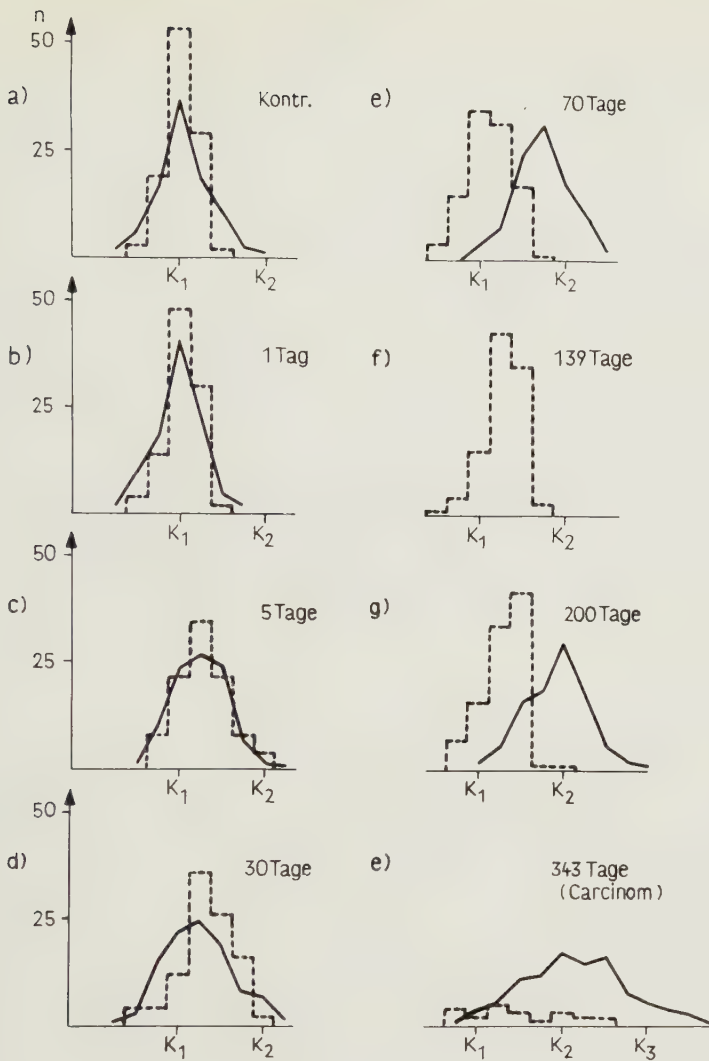


Abb. 20. Das Verhalten von Kernvolumen (ausgezogene Linie, $n = 200$) und DNS-Menge (gestrichelt, $n = 100$) der Rattenschilddrüse im Verlauf der kombinierten Behandlung mit Thiouracil und AAF. a) Mittelwerte von 3 Kontrolltieren, b) nach 1 Tag MTU und AAF, c) nach 5 Tagen MTU und AAF, d) nach 30 Tagen MTU und AAF, e) nach 70 Tagen PTU und AAF, f) nach 139 Tagen PTU und AAF, g) nach 200 Tagen PTU und AAF, h) nach 343 Tagen PTU und AAF.

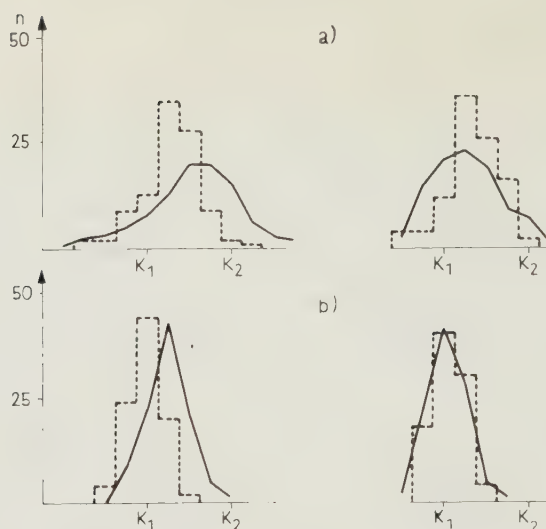


Abb. 21. Die Reversibilität der Rechtsverschiebung der Verteilungskurven von DNS-Menge (gestrichelt) und Zellkernvolumen (ausgezogen) der Rattenschilddrüse nach 30 Tagen MTU. a) Links: nach 30 Tagen MTU bzw. rechts: nach 30 Tagen MTU und AAF; beide Kurven sind deutlich rechtsverschoben, die Maxima liegen außerhalb der Hauptklasse K_1 . b) Nach weiteren 7 Tagen Normalfutter; die DNS-Verteilung entspricht wieder der Norm, lediglich links ist noch eine leichte Zellkernvergrößerung in die erste Zwischenklasse erkennbar.

Gruppe B (Thiouracil und AAF)

Nach 1 Tag ist noch keine eindeutige Veränderung des Verlaufs der Volumen- und der DNS-Kurve zu erkennen (Abb. 20b).

Nach 5 Tagen ist die Volumenkurve deutlich abgeflacht und verbreitert, das Maximum liegt eine Zwischenklasse über K_1 . Der DNS-Gehalt ist mit dem Maximum ebenfalls dort, einzelne Kerne haben jedoch K_2 erreicht (Abb. 20c).

Nach 30 Tagen ist keine weitere Veränderung eingetreten, die Maxima beider Kurven liegen eine Zwischenklasse über K_1 (Abb. 20d).

Nach 70 Tagen fällt auch hier eine deutliche Dissoziation zwischen Kernvolumen- und DNS-Werten auf. Das Maximum der Volumenkurve ist bei einer Zwischenklasse unter K_2 , die meisten Kerne haben ihr Volumen also nahezu verdoppelt. Die DNS-Kurve liegt mit ihrem Maximum dagegen wieder bei K_1 , mit einer starken Betonung der beiden nächsthöheren Zwischenklassen (Abb. 20e).

Nach 139 Tagen ist das Maximum der DNS-Kurve in eine Zwischenklasse über K_1 gerückt (Abb. 20f). Statistisch verlässliche Volumenmessungen waren hier nicht möglich.

Nach 200 Tagen haben die meisten Zellkerne ein gegenüber der Norm verdoppeltes Volumen, K_2 bildet den Gipfel einer nahezu symmetrischen Kurve. Der DNS-Gehalt ist demgegenüber nicht so stark vermehrt, das Maximum liegt zwei Zwischenklassen oberhalb K_1 (Abb. 20g).

Sehr schwierig gestalteten sich die DNS-Messungen beim Adenom und beim Carcinom. Im Adenom liegen die Kerne so dicht, daß es auch bei dünneren Schnitten nicht möglich ist, ausreichend viele Kerne zu messen, da Überlagerungen die Regel sind. Es wurde deshalb eine Serie dünnerer, 5μ dicker Schnitte angefertigt. Zur DNS-Messung war eine neue Kontrollgruppe erforderlich. In den Adenomen ließen sich trotzdem keine verlässlichen Werte gewinnen. In den Lungenmetastasen eines Carcinoms konnten 22 Kerne gut gemessen werden. Ihre DNS-Werte streuten breit über K_1 und K_2 nach beiden Seiten hinaus (Abb. 20h).

Zur Prüfung der Reversibilität der Volumen- und DNS-Verschiebung wurde bei 2 zusätzlichen Tieren nach 30 Tagen Gaben von Thiouracil bzw. Thiouracil und AAF ein Intervall von 7 Tagen mit Normalkost eingeschoben. Die dann untersuchten Schilddrüsen zeigten nicht mehr die während der Fütterung auffallende Rechtsverschiebung der DNS-Werte und nur bei alleiniger Thiouracilbehandlung noch eine leichte Zunahme der Kernvolumina (Abb. 21).

Diskussion

Die histologischen Reaktionen des Schilddrüsengewebes auf Thiouracil, wie sie in den Arbeiten von DALTON (1946/1947), MONEY (1950), GERTEIS (1952) und in neuerer Zeit von SUGIYAMA (1960) beschrieben worden sind, entsprechen einem gesteigerten Verbrauch und einer vermehrten Neubildung von Schilddrüsenhormon. Kolloidausschwemmung, Abrundung und Verkleinerung der Follikel, Zunahme der Zellhöhe und Aufhellung des Cytoplasmas sind die histologischen Kriterien einer solchen Funktionssteigerung. Die Abrundung und Verkleinerung der Follikel, die schon nach 2 Tagen deutlich ist (Abb. 4), zeigt bereits einen beginnenden Umbau des Parenchyms an, wobei allerdings offenbleiben muß, ob die von NEUMANN (1963) beschriebene Untergliederungs-Morphokinetik allein in der Lage ist, dieses Bild zu erklären. Sogenannte Proliferationsknospen, die nach den Neumannschen Untersuchungen entscheidend beteiligt sind, treten in größerer Zahl erst nach 4 Tagen Thiouracileinwirkung auf (Abb. 5). Zugleich sind die Follikel nicht mehr rund, sondern sie erscheinen eingefaltet, wodurch schließlich nach 10 Tagen (Abb. 6) eine sogenannte Basedowifizierung eingetreten ist. Die Drüse

scheint jetzt ihrer Funktion auf erhöhtem Niveau nachzukommen, denn in den nächsten 10 Wochen bleiben die Zeichen gesteigerter Tätigkeit unverändert, und als Ausdruck eines Funktionsgleichgewichtes nimmt die Zahl der Proliferationsknospen allmählich ab (vgl. Abb. 8).

Später, in unseren Versuchen zum Beispiel nach 139 Tagen, ist der Ausgleich offenbar gänzlich vollzogen, und zwar durch Erreichen einer gleichmäßigen, tubulären Drüsenstruktur ohne Einfaltungen und ohne Proliferationsknospen (vgl. Abb. 9). Da ja die Stimulation durch Thiouracil stets weiterbestand, muß man die typische sogenannte Basedowifizierung als Ausdruck einer noch unkompensierten Organbelastung auffassen. Die tubuläre Struktur der Abbildung 9 zeigt dagegen eine kompensierte erhöhte Schilddrüsenfunktion an.

Auf cytologischer Ebene lassen sich diese Vorgänge noch genauer analysieren. Die schon nach wenigen Tagen auffallende Schwellung der Follikelepithelien als Ausdruck einer stärkeren Durchsättigung des Zellleibes ist Zeichen einer vermehrten sekretorischen Zelleistung. Die Kernvolumina, die wir genau bestimmt haben, sind ebenfalls vermehrt, nach 5 Tagen um den Faktor $\sqrt{2}$, nach 30 Tagen fast um das Doppelte (vgl. Abb. 19c, d). Diese Ergebnisse entsprechen den von LUDWIG (1950), KOCH (1958) und WILFINGSEDER (1961) mitgeteilten Befunden. Es handelt sich um ein sogenanntes funktionelles Kernödem, wie es zum Beispiel von BENNINGHOFF (1950) an Ganglien- und Muskelzellen festgestellt worden ist. Die Verschiebung der Maxima um den Faktor $\sqrt{2}$ in die nächste Zwischenklasse (vgl. LUDWIG 1950) hat sicher keine besondere biologische Bedeutung; sie ist eher Folge der semilogarithmischen Einteilung, die das biologische Prinzip des Verdopplungswachstums erfassen soll (HINTZSCHE 1945). Daß die Kernschwellung mit einer Steigerung der Zell- und Organleistung gekoppelt ist, wurde durch autoradiographische Beobachtungen gestützt. Geht doch der Umsatz markierter Aminosäuren der Größe des Kerns weitgehend parallel (OEHLERT u. SCHULTZE 1960), und der Umsatz an RNS-Vorstufen erfolgt sogar in der zweiten Potenz des Kernvolumens (STÖCKER 1962). Dies gilt für das Mäusepankreas und für die Rattenleber und darf wohl prinzipielle Gültigkeit beanspruchen.

Neben und außerhalb dieser funktionellen Kernvolumenzunahme gibt es aber noch das Wachstum der Kerne in Verdopplungsschritten, wie es zuerst von JACOB (1925, 1942) festgestellt und inzwischen in vielen anderen Untersuchungen bestätigt worden ist (Lit. z. B. bei RATHER 1958; GRUNDMANN 1964). Dieses Verdopplungswachstum läßt sich besonders eindrucksvoll durch Messung des DNS-Gehaltes feststellen. Ist doch die eingipflige Verteilungskurve der normalen Schilddrüse (Abb. 19a)

nach 5 Tagen einer zweigipfligen Verteilung (Abb. 19c) gewichen. Nach allen jetzt vorliegenden cytophotometrischen und autoradiographischen Untersuchungen beruht dieser Verteilungstyp auf einer interphasischen, meist prämitotischen DNS-Verdopplung, die sich – wenn auch überlagert durch das funktionelle Ödem – in der Kernvolumenverteilung ebenfalls ausdrückt. Dementsprechend finden sich 3 Tage nach Fütterungsbeginn die ersten Kernteilungen, und histologisch fallen nach 4, besonders nach 10 Tagen (Abb. 6), zahlreiche Großkerne auf, die dem breit ausgezogenen rechten Schenkel der Kernvolumenkurven in den Abbildungen 19c, d entsprechen. Nach den cytophotometrischen Verteilungskurven kann nicht ausgeschlossen werden, daß auch endomitotische Vorgänge ablaufen oder daß Kerne mit bereits verdoppelter DNS-Menge und verdoppelter Kernmasse erst nach längerer Zeit in eine Karyokinese eintreten.

Von der Verteilung der DNS-Werte in Abbildung 19c aus wird auch verständlich, warum erst nach 4 Tagen sogenannte Proliferationsknospen in faßbarer Zahl auftreten (vgl. Abb. 5). Scheint deren Bildung doch zumindest in vielen Fällen mit einer Vermehrung des Zellbestandes der Follikel einherzugehen, wobei Mitosen vielfach an der Basis der Epithelknospen liegen und nicht im Bereich der Knospen selbst (Abb. 7, rechts).

Nach den histo- und cytologischen Kriterien geht also die Funktionssteigerung des Schilddrüsenparenchyms nach 4 bis 5 Tagen in eine Zellvermehrung und damit in einen Wachstumsvorgang über. Da die Thiouracilwirkung letztlich eine Wirkung des TSH des Hypophysenvorderlappens darstellt (s. z. B. ASTWOOD 1943), handelt es sich um eine hormonell ausgelöste Proliferation am Anfang der schließlich zum Carcinom führenden Gewebstransformationen.

Bei der Beurteilung der DNS-Verteilungskurven unter Thiouracil fällt eine konstante Rechtsverschiebung der Maxima 30 und 70 Tage nach Fütterungsbeginn auf (Abb. 19d, e), die deutlich außerhalb des Gipfels der Kontrolltiere liegt. Dies scheint gegen die Lehre von der Stoffwechselkonstanz der DNS zu sprechen, da ja der DNS-Gehalt eines Kerns in gewissen Grenzen Ausdruck der Ploidiestufe und in dieser konstant ist (SWIFT 1950; LEUCHTENBERGER u. SCHRADER 1951; GRUNDMANN 1961). Eine interphasische DNS-Vermehrung äußert sich als zweigipflige Kurve wie in Abbildung 19c, nicht aber als eingipflig verschobene Verteilung wie in Abbildung 19d, e. Ganz ähnliche Befunde hat an der Rattenschilddrüse unter Thiouracil ROELS (1954a, b) mitgeteilt, und FAUTREZ u. Mitarb. (1960) folgern aus diesen und anderen Untersuchungen, daß es eine funktionell bedingte DNS-Vermehrung außerhalb des Mitose- und Endomitosezyklus gibt. Wenngleich die meisten biochemischen und autoradio-

graphischen Befunde gegen eine solche Auffassung sprechen, lassen sich doch auch unsere Befunde vorerst kaum anders erklären.

Dafür spricht auch, daß 139 und 200 Tage nach Fütterungsbeginn, also nach vollzogener histologischer Kompensation unter dem Bild der tubulären Drüsenstruktur (vgl. Abb. 9), diese Rechtsverschiebung wieder verschwindet (Abb. 19f, g). Wenn man nach 30tägiger Thiouracilfütterung 7 Tage lang Normalkost gibt, ist diese Rechtsverschiebung ebenfalls zurückgegangen (Abb. 21). Dies ist am ehesten auf das Abklingen der akuten funktionellen Belastung der Schilddrüse zu beziehen. Vielleicht ist auf diese Weise die Diskrepanz zwischen den Mitteilungen von ROELS (1954a, b) und ALFERT (1955) aufzulösen, da letzterer nach den angegebenen Versuchsdaten erst 7 Tage nach Beendigung der Thiouracilfütterung untersucht hat.

Die histologischen und cytologischen Reaktionen nach kombinierter Fütterung von Thiouracil und AAF entsprechen am Anfang weitgehend den oben beschriebenen, unter Thiouracil allein auftretenden. Sie verlaufen im ganzen verzögert und weniger deutlich. So ist das histologische Bild der sogenannten Basedowifizierung mit multiplen Proliferationsknospen, welches Thiouracil allein schon nach 10 Tagen erzeugt (Abb. 6), erst in etwa 70 Tagen erreicht (Abb. 12). Dementsprechend fehlt 5 Tage nach Fütterungsbeginn die bei Thiouracil allein beobachtete Zweigipfligkeit der Kurve, obwohl mehrere DNS-Werte den Verdopplungswert K_2 erreichen (Abb. 20c, d). Auch die Volumenkurven sind weniger stark rechtsverschoben. Ob es sich hierbei allerdings um einen echten Hemmeffekt des AAF auf die Thiouracil- bzw. TSH-Wirkung handelt, ist fraglich; fiel doch auf, daß die Wasseraufnahme der zusätzlich mit AAF behandelten Tiere erheblich vermindert war, womit auch weniger Thiouracil verabreicht werden konnte.

Ein eindeutiger Unterschied des histologischen Bildes besteht aber nach 139 Tagen: Während die nur mit Thiouracil behandelten Tiere eine recht gleichmäßige tubuläre Schilddrüsenstruktur aufweisen (Abb. 9), bieten die Schilddrüsen der mit beiden Substanzen gefütterten Ratten ein ungleichförmiges Bild: Die Follikel sind unterschiedlich groß, nur zum Teil abgerundet, und immer wieder finden sich Andeutungen von Proliferationsknospen (Abb. 13), die nach obigen Erörterungen auf eine noch nicht eingetretene Kompensation bzw. auf eine ungleichmäßige Stimulation der Schilddrüse hinweisen. Im gleichen Sinn kann auch das Bestehenbleiben der Rechtsverschiebung bei der Verteilung der DNS-Kurven 139 und 200 Tage nach Fütterungsbeginn interpretiert werden (Abb. 20f, g).

Inmitten dieses ungleichmäßig stimulierten Schilddrüsengewebes bilden sich nach etwa 200 Tagen die ersten Adenome, und zwar meist an mehreren Stellen zugleich (Abb. 16). In der zeitlichen Seriierung, die durch die Versuchsanordnung ermöglicht war, beginnt die Adenombildung mit dem Auftreten kleiner dunkelkerniger Zellhaufen, die von den Proliferationsknospen deutlich zu unterscheiden sind (Abb. 14). Im Innern dieser Zellhaufen entstehen Lumina, die sich zum Teil rasch ausdehnen, und die umgebenden Zellen formieren sich zu dunkelkernigen Follikelepithelien mit unregelmäßiger Anordnung und sehr verschiedenartigen Proliferationsknospen (Abb. 15). Die Volumina aller dieser Kerne liegen im Bereich von K_1 , also der diploiden Normalkerne der Rattenschilddrüse.

Durch weiteres Wachstum dieser Adenome, die von Anfang an unscharf gegen das umgebende Schilddrüsengewebe abgesetzt sind, entstehen schließlich die Carcinome. Die von uns beobachteten Tumoren waren durchweg Adenocarcinome, deren Herkunft aus multiplen Adenomen stets deutlich war. Die Metastasen boten meist das gleiche Bild. An mehreren Stellen hatten sich durch Entdifferenzierung allerdings anaplastische Tumorbereiche entwickelt, die keinerlei Schilddrüsenstruktur erkennen ließen (Abb. 17).

Die Kernvolumenmessungen und auch die DNS-Werte wiesen eine breite Streuung mit unregelmäßiger Gipfelbildung auf, (Abb. 20e), wobei allerdings durch die dichte Lagerung und die vielfältige Überlappung der Kerne nur wenige verlässliche DNS-Werte gewonnen werden konnten. Diese breite Streuung stimmt mit allen an anderen bösartigen Tumoren erhobenen Befunden überein (LEUCHTENBERGER u. a. 1954; SANDRITTER 1952, 1960; GRUNDMANN, HILLEMANN u. RHA 1961).

Überblickt man von hier aus den Vorgang der Krebsentstehung unter den hier gegebenen Bedingungen, so sind folgende Befunde herauszuheben: 1. Der durch Thiouracil ausgelöste Funktions- und Proliferationsreiz wird durch zusätzliche AAF-Gaben nicht begünstigt. 2. Die Adenome als Vorstufen der Carcinome entstehen erst nach Einstellung eines gewissen Gleichgewichts zwischen Funktionsanregung und histologischem Umbau. 3. Die Adenome und damit auch die Carcinome entwickeln sich aus klein- und dunkelkernigen Zellhaufen, die von Anfang an eine andere Struktur als die Follikelepithelzellen aufweisen.

Daraus ergibt sich, daß die Vorstellung, die Tumoren entstünden als direkte Folge einer funktionellen Überlastung, also auf dem Boden einer Anpassungshyperplasie an bestimmte Stoffwechselvorgänge, für die hier beschriebenen Formen nicht gültig ist. Das schließt nicht aus, daß gut-

artige, tumorhafte Hyperplasien Ausdruck einer solchen Regulationsstörung sind, wie das von BÜNGELER (1951/1952) mehrfach betont worden ist. In den hier vorgelegten Untersuchungen hat aber ein zusätzliches, carcinogenes Agens die Tumorentstehung entscheidend begünstigt und die Umbauvorgänge gelenkt. Es tat dies nicht durch eine Steigerung der funktionellen Belastung und der reaktiven Proliferationen, sondern eher durch deren Bremsung. Nach den Untersuchungen von PASCHKIS (1948) treten nach länger dauernder Thiouracilverabreichung ohne zusätzliches carcinogenes Agens Adenome und auch Carcinome der Schilddrüse auf. Wir haben bei unseren Versuchen bei alleiniger Thiouracilfütterung nach 230 Tagen ein Adenom beobachtet, welches in Entstehung und Aussehen den bei kombinierter Fütterung auftretenden durchaus entsprach. Ein Carcinom entwickelte sich hier nicht. Ob letztlich ein körpereigenes oder körperfremdes carcinogenes Agens zusätzlich einwirkt, kann nicht entschieden werden. Tatsache ist, das sei nochmals betont, daß die zeitliche Vorverlagerung der Carcinogenese unter dem Einfluß von AAF weder mit einer Steigerung der funktionellen noch der proliferativen Reizung einhergeht.

Im gleichen Sinn spricht die Beobachtung, daß zum Zeitpunkt des Auftretens der Adenome und Carcinome die Proliferations- und Umbauvorgänge längst auf einem höheren funktionellen Gleichgewicht zur Ruhe gekommen sind. Die ersten Adenomnester treten in dem tubulär umgewandelten Schilddrüsengewebe auf (Abb. 14, 15).

Im Vergleich zu den mit der gleichen Methodik vorgenommenen Untersuchungen an der Rattenleber (GRUNDMANN 1954; HOBIG u. GRUNDMANN 1963) und dem Portioepithel der Frau (GRUNDMANN, HILLEMANNS u. RHA 1960, 1961) fällt hier auf, daß die Polyploidisierung zurücktritt. Es überwiegen stets die diploiden bzw. hyperdiploiden DNS-Werte (K_1 und darüber); tetraploide Großkerne sind nur in den ersten 30 Tagen sicher nachweisbar (vgl. Abb. 20c, d). Schon bei histologischer Betrachtung ist die Ungleichmäßigkeit der Kerngröße in den frühen Phasen deutlich (Abb. 7), später ist das Bild gleichförmiger (Abb. 8).

Welche Rolle bei der Carcinogenese die Verschiebung der DNS-Verteilungsgipfel in den hyperdiploiden Bereich spielt (Abb. 20f, g), kann nicht sicher entschieden werden. Ist sie doch bei alleiniger Fütterung von Thiouracil nach 200 Tagen wieder aufgehoben (Abb. 19g) und zumindest in den Anfangsphasen noch reversibel (Abb. 21). Wir können freilich nicht ausschließen, daß dieser Verschiebung in den hyperdiploiden Bereich eine Aneuploidie zugrunde liegt, wie sie für die Carcinogenese mehrfach postuliert worden ist, und zwar sowohl nach Chromosomenzählungen

(MARQUARDT 1959; LEVAN 1958; LEVAN u. HSU 1960) als auch nach cytophotometrischen DNS-Messungen (STICH 1960; SANDRITTER 1952). Die Adenome entstehen jedenfalls aus auffallend kleinen Kernen, deren DNS-Gehalt wegen der sehr dichten Lagerung nicht gemessen werden konnten.

Der erste qualitative Unterschied zwischen beiden Versuchsreihen ist etwa 140 Tage nach Fütterungsbeginn festzustellen. Er besteht in der schon genannten Unregelmäßigkeit von Größe und Anordnung der Follikel; dies ergibt sich aus einem Vergleich der Abbildung 13 und 9. Darin scheint der Keim für die frühe Entstehung von Adenomen im Drüsenparenchym zu liegen. Die Funktionssteigerung und anschließende erhöhte Proliferation sind also offenbar die Voraussetzung für die Wirkung des Carcinogens AAF. Somit wird also entweder die carcinogene Eigenschaft des AAF durch die Funktions- und Proliferationssteigerung des Thiouracil bzw. TSH auf die Schilddrüse gelenkt, bzw. es wird durch die Wirkung des Thiouracils an der Schilddrüse erst die Voraussetzung für die lokale, carcinogene Wirksamkeit des AAF geschaffen. Man kann somit von einer gelenkten Organotropie sprechen.

Für solche Zusammenhänge ergeben sich aus den vorliegenden Mitteilungen einige weitere Anhaltspunkte (s. DANNENBERG 1963). So schiebt sich mehr und mehr in den Vordergrund, daß die verschiedenen Carcinogene vor allem an dem für die Zellfunktion entscheidenden System des Nukleinsäure-Eiweiß-Stoffwechsels angreifen. Auch für AAF ist der Nachweis einer Störung der Protein- und der RNS-Synthese geführt (ARRHENIUS 1961), und AAF wird zumindest in der Rattenleber primär an RNS gebunden (MARROQUIN 1962). Für Proflavin, das in seiner chemischen Konstitution dem AAF sehr ähnlich ist, ist im Reagenzglas der Einbau in RNS bewiesen (LEERMANN 1961). Danach ist die Vorstellung, daß AAF unmittelbar in die Nukleinsäurespirale – gleichgültig ob DNS oder RNS – eingebaut werden kann, naheliegend. Dies hätte zur Folge, daß in der Zelle entsprechend der veränderten Nukleinsäurematrize atypisches Protein synthetisiert wird, und es entfielen nach BÜCHNER (1960, 1961a, 1961b) die physiologische Hemmung der DNS-Synthese durch das normale zellspezifische Protein, woraus eine unkontrollierte DNS-Syntheseaktivität, das heißt das Tumorwachstum, resultieren könnte. Eine Schwierigkeit dieser Deutung besteht jedoch unter anderem darin, daß AAF als Molekül etwas größer ist als die Basenpaare, deren Stellen es in der Nukleinsäurespirale einnehmen soll. Ob die funktionelle Entfaltung bestimmter Genabschnitte, wie sie an den Riesenchromosomen der Dipteren-Speicheldrüsen als sogenannte „puffs“ erkennbar sind

(BEERMANN 1952; PELLING 1959), den Einbau fremder Moleküle erleichtern, steht noch dahin.

Der primäre Angriffspunkt vieler carcinogener Agenzien am Nukleinsäure-Eiweiß-System lenkt den Blick immer wieder auf diese zentrale Stoffwechselkette, die bei allen Zellstoffwechselsteigerungen eine entscheidende Schlüsselstellung einnimmt und deren Störung bei gesteigertem Umsatz wesentlich leichter möglich erscheint als in einer ruhenden Zelle. So wäre die Kombinationswirkung einer funktions- und proliferationsanregenden Substanz – in unserem Fall des Thiouracil – und einer spezifisch carcinogenen Substanz – des AAF – sowohl vom allgemein-pathologischen als auch zellbiologischen Standpunkt her erklärbar.

Sicher ist nach unseren Befunden aber, daß die alte Vorstellung, wonach die Carcinogenese grundsätzlich über zwei Phasen abläuft (BERENBLUM 1941, 1947) von denen die erste durch ein „initiating agent“, die zweite durch ein „promoting agent“ ausgelöst wird, in dieser vereinfachten Form für die Entstehung des experimentellen Schilddrüsenkrebses nicht anwendbar ist. Bei dieser Vorstellung müßte das AAF als „initiating agent“ die Umwandlung der Schilddrüsenzellen in zunächst noch ruhende Carcinomzellen bewirken, das Thiouracil bzw. TSH als „promoting agent“ das Wachstum dieser latenten Tumorzellen dann sekundär auslösen (vgl. BERENBLUM u. SHUBIK 1954). Die ersten Tumorzellen in Form der dunkelkernigen frühen Adenomknötchen (Abb. 14) entstehen jedoch erst nach Abschluß des durch Thiouracil ausgelösten Proliferationsreizes.

Wir haben nie Anhaltspunkte für „latent tumor cells“ gefunden. Wenn sich Tumorzellen entwickeln, etwa in Form der kleinen, dunkelkernigen Komplexe der Abbildung 14, dann war der Zeitpunkt der grob faßbaren Carcinogenese nicht mehr fern. Die Tumorzelle entsteht also auch in der Schilddrüse – wie zum Beispiel in der Rattenleber (vgl. GRUNDMANN u. SIEBURG 1962) – erst unmittelbar vor, genaugenommen sogar zum Zeitpunkt der Carcinomentstehung und nicht weit vorher. Wenn sie vorhanden ist, vermehrt sie sich sofort zum Carcinom. Das gilt zumindest für die chemisch reduzierten bösartigen Geschwülste. Die Tumorzelle ist eine neue Zellrasse mit neuen Eigenschaften, nächstliegend als Folge einer Mutation (BAUER 1928, 1963). Im vorliegenden Modell-experiment wird die ubiquitäre carcinogene Wirkung des AAF durch das Thiouracil auf die Schilddrüse konzentriert; es liegt eine gelenkte Organotropie vor.

Zusammenfassung

1. In der Untersuchungsreihe von insgesamt 90 Ratten erhielten 30 Tiere bis 230 Tage lang Thiouracil und weitere 40 Ratten bis 343 Tage Thiouracil und AAF oral. Bei 1 Tier der ersten Gruppe trat nach 230 Tagen ein Adenom auf. In der zweiten Gruppe entwickelten sich bei 3 Tieren Adenome, bei 2 Tieren metastasierende Carcinome. Die übrigen Ratten wurden in verschiedenen Abständen vom Fütterungsbeginn getötet.

2. Die vergleichende histologische Untersuchung ergab, daß die durch das Thiouracil ausgelöste Funktions- und Proliferationsanregung des Schilddrüsenparenchyms durch die kombinierte Behandlung mit Thiouracil und AAF nicht gefördert wurde.

3. Zur genaueren Beurteilung des Kernverhaltens wurden Messungen des Kernvolumens und der DNS-Menge (cytophotometrisch nach Feulgen-Färbung) vorgenommen. Dabei fanden sich in beiden Reihen eine funktionsbedingte Kernvolumenzunahme und auch eine Zunahme des mittleren DNS-Wertes der Epithelzellkerne. Beide Werte erwiesen sich als reversibel, wenn nach 30 Tagen Thiouracil bzw. Thiouracil und AAF-Fütterung 7 Tage lang Normalkost gegeben wurde.

4. Die Adenome als Vorläufer der Carcinome bildeten sich aus neu entstandenen kleinen, dunkelkernigen Zellnestern mit starker Wachstumsintensität. Für längere Zeit bestehende „ruhende Krebszellen“ fand sich kein Anhalt.

5. Die Befunde werden im Zusammenhang mit der Zwei-Stufen-Theorie der Carcinogenese und mit dem bevorzugten Angriffspunkt des AAF am Nukleinsäure-Eiweiß-Komplex diskutiert. Es wird gefolgert, daß die durch Thiouracil angeregte Ausschüttung des thyreotropen Hormons des Hypophysenvorderlappens die Voraussetzung für die carcinogene Wirksamkeit des AAF schafft. Es besteht also eine durch das Thiouracil gelenkte Organotropie.

Summary

1. In an experimental series of a total of 90 rats, 30 animals received Thiouracil up to 230 days, and another 40 rats were administered Thiouracil and AAF orally up to 343 days. After 230 days an adenoma occurred in one animal of the first group. Three animals of the second group developed adenomas, two animals developed metastasizing carcinomas. The remaining rats were killed at varying intervals from the beginning of the administration.

2. A comparative histological examination showed that the function and proliferation-stimulation of the thyroid parenchyma caused by Thiouracil was not promoted by the combined treatment with Thiouracil and AAF.

3. For a more accurate assessment of the nuclear behaviour, the nuclear volume and the DNA quantity was measured cytophotometrically after Feulgen staining. An increase of the nuclear volume due to the function as well as an increase of the mean DNA value of the epithelial cell nuclei was found in both series. Both values proved reversible if normal food was given for 7 days after Thiouracil or Thiouracil plus AAF administration for 30 days.

4. Precarcinomatous adenomas formed from small, new cell accumulations with dark nuclei showing a strong growth intensity. There was no indication of "resting cancerous cells" existing for a prolonged time.

5. The findings are discussed in connection with the 2-phase theory of carcinogenesis and with the AAF's preferred point of attack at the nucleic acid-albumin complex. It is concluded that the increased evacuation of the thyrotropic hormone of the anterior lobe of the pituitary gland, stimulated by Thiouracil, develops the prerequisite for the carcinogenic action of AAF. This means that there is an organotropy controlled by Thiouracil.

Résumé

1° – Dans une série expérimentale d'un total de 90 rats, 30 animaux recevaient du thouracil pendant une durée allant jusqu'à 230 jours et 40 autres rats jusqu'à 343 jours du thiouracil et du AAF par voie orale. Chez un animal du premier groupe survint un adénome après 230 jours. Dans le second groupe on observa la formation d'un adénome chez 3 animaux et chez 2 animaux des carcinomes avec métastases. Le reste des animaux a été sacrifié à différents intervalles après le début de l'expérience.

2° – L'examen histologique comparatif montra que la stimulation fonctionnelle et proliférative déclenchée par le thiouracil au niveau du parenchyme thyroïdien n'est pas activée par le traitement associé par le thiouracil et l'AAF.

3° – Pour mieux étudier le comportement nucléaire on a fait des mesures du volume des noyaux et de la quantité de DNS (cytophotométriquement après coloration Feulgen). On a constaté par ces mesures dans les deux groupes une augmentation du volume nucléaire d'origine fonctionnelle et aussi une augmentation de la valeur DNS moyenne dans les noyaux des cellules épithéliales. Les deux valeurs se sont montrées réversibles, si on donne après 30 jours de thiouracil resp. thiouracil plus AAF une nourriture normale pendant 7 jours.

4° – Les adénomes en tant que précurseurs des carcinomes se sont formés à partir de nids cellulaires néoformés, de faibles dimensions et à noyaux sombres avec une activité proliférative intense. On n'a pas constaté d'indication pour l'existence de «cellules cancéreuses au repos» existant depuis longtemps.

5° – Les résultats sont discutés dans le contexte de la théorie en deux phases de la carcinogénèse et du point d'impact préféré de l'AAF sur le complexe acide nucléique-albumine. On conclut que la production d'hormone thyroïdienne provoquée par le thiouracil au niveau du lobe antérieur de l'hypophyse crée la condition par l'action carcinogénétique de l'AAF. Il existe donc un organotropisme dirigé par le thiouracil.

Literatur

- ALFERT, M., BERN, H. A. and KAHN, R., Karyometric and microspectrophotometric studies of rat thyroid nuclei in different functional states. *Acta anat. (Basel)* **23**, 185 (1955).
- ARRHENIUS, E. and HULTIN, T., The effect of 2-AAF and related aromatic amines on the protein and ribonucleic acid metabolism of liver slices. *Exper. Cell Res.* **22**, 476 (1961).
- ASTWOOD, E. B. e. a., Action of certain sulfonamides and of thiourea upon the function of the thyroid gland of the rat. *Endocrinology* **32**, 210 (1943).
- BAUER, K. H., *Mutationstheorie der Geschwulstentstehung*. Berlin 1928.
- , *Das Krebsproblem*. Springer, Berlin 1963.
- BEERMANN, W., Chromosomenstruktur und Zelldifferenzierung in der Speicheldrüse von *Trichcladius vitripennis*. *Zschr. Naturforsch.* **7b**, 237 (1952).

- BERENBLUM, J., The cocarcinogenetic action of croton resin. *Cancer Res.* **1**, 44, 807 (1944).
- and SHUBIK, P., The role of croton oil applications, associated with a single painting of a carcinogen, in tumor induction of the mouse skin. *Brit. J. Cancer* **1**, 379 (1947).
- , The probable nature of promoting action and its significance in the understanding of the mechanism of carcinogenesis. *Cancer Res.* **14**, 471 (1954).
- BIELSCHOWSKI, F., Distant tumors produced by 2-amino- and 2-acetylaminofluoren. *Brit. J. Exper. Path.* **25**, 1 (1944a).
- , Tumors of the thyroid produced by 2-acetylaminofluoren and allylthiourea. *Brit. J. Exper. Path.* **25**, 90 (1944b).
- , Experimental nodular goitre. *Brit. J. Exper. Path.* **26**, 270 (1945).
- , The carcinogenetic action of 2-acetylaminofluoren and related compounds. *Brit. Med. Bull.* **4**, 1946/1947).
- , The role of thyroxine deficiency in the formation of experimental tumors of the thyroid. *Brit. J. Cancer* **3**, 547 (1949).
- , Neoplasia and internal environment. *Brit. J. Cancer* **9**, 80 (1955).
- , Hormonal factors in neoplasia of the thyroid. *Acta Un. int. Cancer (Louvain)* **16**, 133 (1960).
- BÜCHNER, F., Die Morphologie der Krebsentstehung. *Therapiewoche* **10**, 12, 2 (1960).
- , Die experimentelle Kanzerisierung der Parenchymzelle in der Synopsis klassischer und moderner Methoden. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* **45**, 37 (1961a).
- , GRUNDMANN, E. und OEHLERT, W., Die experimentelle Kanzerisierung der Parenchymzelle. *Dtsch. med. Wschr.* **86**, 1845 (1961b).
- , OEHLERT, W. und NOLTENIUS, H., DNS, RNS und Protein bei der Regeneration und Kanzerisierung im Experiment. *Dtsch. med. Wschr.* **88**, 2277 (1963).
- BÜNGELER, W., Geschwülste und regulierte abhängige Wachstumsstörungen. *Zschr. Krebsforsch.* **58**, 72 (1951/1952).
- CAMPBELL, J. G., Induction of multiple primary tumors in with 2-acetylaminofluoren. *Brit. J. Cancer* **9**, 163 (1955).
- COX, A. J., WILSON, R. H. and DEEDS, F., The carcinogenetic activity of 2-acetylaminofluoren. Characteristics of the lesions in the albino rat. *Cancer Res.* **7**, 647 (1947).
- DALTON, A. J., MORRIS, H. P. and DUBNIK, C. S., Morphologic changes in the organs of female C3H mice after longterm ingestion of thiourea and thiouracil. *J. Nat. Cancer Inst.* **9**, 201 (1946/1947).
- DANNENBERG, H., Zum Wirkungsmechanismus krebserzeugender Faktoren. *Dtsch. med. Wschr.* **13**, 605 (1963).
- FAUTREZ, J., Correlation entre le volume du voyau et sa teneur en ADN. *Zschr. mikr.-anat. Forsch.* **66**, 210 (1960).
- GERTEIS, W., Über den Bau- und Wachstumsplan der menschlichen Schilddrüse nach Thiouracil-Behandlung. *Beitr. path. Anat.* **112**, 421 (1952).
- GRUNDMANN, E., Beiträge zur Krebsentstehung in der Rattenleber an Hand mikrophotometrischer DNS-Messungen. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* **38**, 362 (1954).
- , Die Zytogenese des Krebses. *Dtsch. med. Wschr.* **86**, 1077 (1961).
- , Allgemeine Cytologie. Thieme, Stuttgart **1964**.
- , HILLEMANN, H. G. und RHA, K., Zur Zytogenese des Portiocarcinoms nach zytophotometrischen Untersuchungen. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* **44**, 261 (1960).
- — —, Cytophotometrische Untersuchungen am menschlichen Portioepithel während der Krebsentwicklung. 1. Das Verhalten von Kernvolumen und Desoxyribonukleinsäure. *Zschr. Krebsforsch.* **64**, 261 (1961).
- , HOBIK, H. P. und SCHÜHL, A., Die Mikrospektrophotometrie der Zelle im sichtbaren Spektralbereich. *Dtsch. med. Wschr.* **88**, 98 (1963).
- HALL, V. H., The role of initiating and promoting factors in the pathogenesis of tumors of the thyroid. *Brit. J. Cancer* **2**, 273 (1948).
- and BIELSCHOWSKI, J., The development of malignancy in experimentally induced adenoma of the thyroid. *Brit. J. Cancer* **3**, 534 (1949).
- HINTZSCHE, E., Statistische Probleme aus der Kerngrößenforschung. *Experientia* **1**, 103 (1945).

- HOBİK, H. P. und GRUNDMANN, E., Quantitative Veränderungen der DNS und der RNS in der Rattenleberzelle während der Carcinogenese durch Diäthylnitrosamin. *Beitr. path. Anat.* **127**, 25 (1962).
- ISRAEL, M. and ELLIS, A., The neoplastic potentialities of mouse thyroid under extreme stimulation. *Brit. J. Cancer* **14**, 206 (1960).
- JABARA, A. G., A comparison of the pathological effects of 2-AAF, 4-acetylaminobiphenyl and 4-acetylaminobiphenyl in the dog. *Cancer Res.* **23**, 921 (1963).
- JACOB, W., Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Verdoppelung ihres Volumens. *Beitrag zur synthetischen Morphologie. Arch. Entw.mech.* **106**, 124 (1925).
- , Die verschiedenen Arten des gesetzmäßigen Zellwachstums und ihre Beziehung zu Zellfunktion und innerem Bauplan. *Arch. Entw.mech.* **141**, 584 (1942).
- KOCH, G., Zellkernmessungen an der experimentell beeinflussten Rattenschilddrüse. *Zschr. Zellforsch.* **47**, 517 (1958).
- KRACHT, W., Geschwulstartige Anpassungshyperplasien der Schilddrüse im Tierexperiment. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* **38**, 372 (1954).
- LAQUER, G. L., Nodular hyperplasia of thyroid glands induced by thiouracil. *Cancer Res.* **9**, 247 (1949).
- LEATHEM, J. H., Goitrogen-induced thyroid tumors. *Ciba Foundation Colloquia on Endocrinology*, Vol. **12**, 1958.
- LERMAN, L. S., Structural considerations in the interaction of DNA and acridines. *J. Molec. Biol.* **3**, 18 (1961).
- LEUCHTENBERGER, C., LEUCHTENBERGER, R. and DAVIS, A. M., A microspectrophotometric study of the desoxyribose nucleic acid (DNA) content in cells of normal and malignant human tissues. *Amer. J. Path.* **30**, 65 (1954).
- and SCHRADER, F., Relationship between nuclear volumes, amount of intranuclear proteins and desoxyribonucleic acid (DNA) in various rat cells. *Biol. Bull.* **101**, 95 (1951).
- LEVAN, A., Cancerogenesis. A genetic adaption on the cellular level. *Jaarb. Kankeron-derzoek* **8**, 110 (1958).
- and HSU, T. C., The chromosomes of two cell strains from mammary carcinomas of the mouse. *Hereditas* **46**, 231, (1960).
- LUDWIG, K. S., Das Zellkernvolumen in der Schilddrüse normaler sowie mit Thiouracil und Thyroxin behandelte Ratten. *Acta anat. (Basel)* **11**, 146 (1950).
- MACKENZIE, C. G. and MACKENZIE, I. B., Effect of sulfonamides and thioureas on the thyroid gland and basal metabolism. *Endocrinology* **32**, 185 (1943).
- MARQUARDT, H., Erbänderungen somatischer Zellen und ihr Anteil bei experimenteller Krebsauslösung. *Naturwissenschaften* **46**, 217 (1959).
- MARROQUIN, F. and FARBER, E., The apparent binding of radioactive 2-acetaminofluoren to rat-liver ribonucleic acid in vivo. *Biochem. Biophys. Acta (Amst.)* **55**, 403 (1962).
- MONEY, W. L. and RAWSON, R. W., The experimental production of thyroid tumors in the rat exposed to prolonged treatment with thiouracil. *Cancer* **3**, 321 (1950).
- MORRIS, H. P. and WESTFALL, R., Distribution of n-acetyl-2-aminofluoren in the rat following a single feeding. *J. Nat. Cancer Inst.* **9**, 149 (1948).
- NAPAL'KOV, N. P., Experimentelle Tumoren der Schilddrüse bei kombinierter Anwendung von 6-Methylthiouracil und 2-Acetylaminofluoren. *Vopr. onko (Moskva)* **5**, 25 (1959).
- NEUMANN, P., Die Morphokinetik der Schilddrüse. Fischer, Stuttgart **1963**.
- OEHLERT, W., Autoradiographische Untersuchungen zum Eiweiß-Ribonukleinsäure- und Desoxyribonukleinsäure-Stoffwechsel der Zelle. *Habil.-Schrift. Freiburg i. Br.* **1960**.
- und SCHULTZE, B., Die Kerngröße als Ausdruck der synthetischen Aktivität des Kerns. *Beitr. path. Anat.* **123**, 101 (1960).
- PASCHKIS, K. E., CANTAROW, A., RAKOFF, A. E. and ROTHENBERG, M., Mitosis stimulation in the thyroid gland induced by thiouracil. *Endocrinology* **37**, 133 (1947).
- and STASNEY, I., Influence of thiouracil on carcinoma induced by 2-AAF. *Cancer Res.* **8**, 257 (1948).

- PELLING, G., Chromosomal synthesis of ribonucleic acid as shown by incorporation of uridine labelled with tritium. *Nature (London)* **184**, Suppl. 9, 655 (1959).
- PITT-RIVERS, R., Mode of action of antithyroid compounds. *Physiol. Rev.* **30**, 194 (1950).
- PURVES, H. D. and GRIESBACH, W. E., Studies on experimental goitre: Thyroid carcinomas in rats treated with thiourea. *Brit. J. Exper. Path.* **27**, 294 (1946).
- —, Studies on experimental goitre. Thyroid tumors in rats treated with thiourea. *Brit. J. Exper. Path.* **28**, 46 (1947).
- RATHER, L. J., The significance of nuclear size in physiological processes. *Ergebn. Path.* **38**, 127 (1958).
- RERABEK, I. and RERABEK, A., Nucleic acids and cytological changes in the thyroid gland after thiouracil. *Acta physiol. Scand.* **14**, 276 (1947).
- ROELS, H., Mitosis and DNA content of the nucleus. *Nature (London)* **173**, 1039 (1954a).
- , Cell activity and DNA content of the nuclei of the thyroid of the white rat. *Nature (London)* **174**, 514 (1954b).
- SANDRITTER, W., Über den Nukleinsäuregehalt in malignen Geschwülsten. *Naturwissenschaften* **46** (1952).
- , Zur Krebsdiagnostik an vaginalen Zellausstrichen mittels cytophotometrischen Messungen. *Arch. Gynäk.* **192**, 293 (1960).
- SCHMÄHL, D., Entstehung, Wachstum und Chemotherapie maligner Tumoren. Editio Cantor, Aulendorf **1962**, 13. Beiheft Arzneimittelf.
- STICH, H. F., The DNA content of tumor cells. II. Alterations during the formation of hepatomas in rats. *J. Nat. Cancer Inst.* **24**, 1283 (1960).
- and EMSON, H. E., Aneuploid desoxyribonucleic acid content of human carcinomas. *Nature (London)* **184**, 290 (1959).
- STÖCKER, E., Autoradiographische Untersuchung zur Deutung der funktionellen Kernschwellung am exokrinen Pankreas. *Zschr. Zellforsch.* **57**, 47 (1962).
- STOLL, R. et MARAUD, R., Sur l'induction de tumeurs thyroïdiennes chez le rat traité par le propylthiouracil et la radio-iode. *Bull. Cancer* **50**, 389 (1963).
- SUGIYAMA, N., Histological studies of the thyroid gland of the albino rat treated with methylthiouracil, with special reference to its structure- and growthplan. *Okajimas fol. anat. Jap.* **35**, 219 (1960).
- SWIFT, H. H., The constancy of desoxyribose nucleic acid in plant nuclei. *Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.)* **36**, 643, (1950).
- WILFINGSER, P., OLBRICH, A. und MANGUTSCH, B., Änderungen der Zellkerngrößen nach länger dauernder medikamentöser Beeinflussung der Schilddrüsentätigkeit beim Meerschweinchen. *Zschr. mikr.-anat. Forsch.* **67**, 3 (1961).
- WISLON, R., DEEDS, F. and COX, A. J., The toxicity and carcinogenetic activity of AAF. *Cancer Res.* **1**, 595 (1941).
- — —, The carcinogenetic activity of 2-AAF. II. Effects of concentration and of duration of exposure. *Cancer Res.* **7**, 444 (1947).

Sonderdruck aus „Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie“, Band 132 (1965), Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

LEBENS LAUF

Am 20. Februar 1940 wurde ich, Hans Joachim Seidel, als erstes Kind des Dr. med. Hans Seidel und seiner Frau Gabriele, geb. Schweitzer, in Berlin geboren. Ich habe noch vier jüngere Geschwister. Durch Kriegseinwirkung kamen wir 1945 nach Ingelfingen in Nordwürttemberg, wo ich eingeschult wurde. Mein Vater führte dort eine ärztliche Allgemeinpraxis. Ab 1949 besuchte ich das humanistische Gymnasium in Schwäbisch Hall. 1956 zog meine Familie nach Gerlingen bei Stuttgart um, ich machte 1958 im Karlsgymnasium in Stuttgart das Abitur. Im Sommersemester 1958 begann ich in Heidelberg mit dem Studium der Medizin und legte dort Vorphysikum und im Sommer 1960 das Physikum ab. Nach dem ersten klinischen Semester wechselte ich an die Universität Freiburg i. Br. und bestand im Sommer 1963 das medizinische Staatsexamen. Meine Doktorarbeit machte ich im Pathologischen Institut in Freiburg.

Als Medizinalassistent arbeitete ich zunächst in der Medizinischen Klinik Freiburg, dann in Schwäbisch Hall in der Chirurgie und in Ludwigsburg in der Gynäkologie. Seit Mai 1965 bin ich im Institut für experimentelle Pathologie der Farbenfabriken Bayer AG in Wuppertal-Elberfeld tätig.

Hans Joachim Seidel